



Bel BioLab

Протокол синтеза кДНК

Все компоненты перед использованием должны быть разморожены и хорошо перемешаны.

1. Приготовьте 25 мкл следующей смеси используя 0,2 мл пробирки.

Компонент	Объем (μl)	Конечная концентрация
10-кратный буфер TG	2,5	1-кратный
dNTPs (25 mM)	0,5	0,5 mM
Oligo- (dT) ₂₀ (100 μM) или Random Hexamers (100 μM)	0,1 – 0,25	0,4 - 1 μM
РНК матрица	Определяется пользователем	1 - 5 μg всей клеточной РНК или 10 - 500 ng мРНК
Diamant RevertM (200 U/μl)	0,2 - 1	40 - 200 U
DEPC H ₂ O	Довести реакционную смесь до 25 мкл водой, свободной от РНКаз	

2. Аккуратно смешайте и отцентрифугируйте.

3. Условия проведения ревертирования

Мы рекомендуем следующую стандартную схему

Ревертирование	25°C	10 мин
	55 °C	15-60 мин
Инактивация ревертазы	85°C	5 мин
Хранение	4°C	∞

4. Для последующего анализа в qPCR мы рекомендуем брать не более 2 мкл кДНК на реакцию амплификации объемом 25 мкл.